

VEROTOXIN-NEUTRALIZING AGENT

Patent number: JP10330267
Publication date: 1998-12-15
Inventor: OIKE HIROMI; TASHIRO YASUTO; HIRAYAMA MASAO
Applicant: MEIJI SEIKA KAISHA LTD
Classification:
- **International:** A61K31/70; A61K31/70; C07H3/06
- **european:**
Application number: JP19970138262 19970528
Priority number(s):

Also published as:



JP10330267 (A)

Abstract of JP10330267

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a verotoxin-neutralizing agent capable of suppressing onset, progress and severe state of various diseases (e.g. diarrhoea, abdominal pain, bloody stool, HUS, encephalopathy, etc.) caused by verotoxin-producing bacterium such as enterohemorrhagic Escherichia coli, Shigella dysenteriae, Citrobacter freundii, Enterobacter cloacae or Aeromonas spp and death due to these diseases and alleviating these symptoms.

SOLUTION: This verotoxin-neutralizing agent effectively and safely neutralizes verotoxin produced by verotoxin-producing bacterium including enterohemorrhagic Escherichia coli by adding fractooligosaccharide or fractooligosaccharide and bifidobacterium to foods or feeds.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-330267

(43) 公開日 平成10年(1998)12月15日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	F I	
A 6 1 K 31/70	AD Q	A 6 1 K 31/70	AD Q
	AD Z		AD Z
C 0 7 H 3/06		C 0 7 H 3/06	

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 4 頁)

(21) 出願番号	特願平9-138262	(71) 出願人	000006091 明治製菓株式会社 東京都中央区京橋2丁目4番16号
(22) 出願日	平成9年(1997)5月28日	(72) 発明者	尾池 洋美 埼玉県坂戸市千代田5-3-1 明治製菓 株式会社生物科学研究所内
		(72) 発明者	田代 靖人 埼玉県坂戸市千代田5-3-1 明治製菓 株式会社生物科学研究所内
		(72) 発明者	平山 匡男 埼玉県坂戸市千代田5-3-1 明治製菓 株式会社生物科学研究所内

(54) 【発明の名称】 ペロ毒素中和剤

(57) 【要約】

【課題】腸管出血性大腸菌、志賀赤痢菌、Citrobacter freundii、Enterobacter cloacae、Aeromonas sppなどペロ毒素産生菌に起因した各種疾病（下痢、腹痛、血便、HUS、脳症など）の発症、進行、重症化並びに死亡の抑制、症状を軽減させることなどを可能にするペロ毒素中和剤を提供する。

【解決手段】フラクトオリゴ糖、またはフラクトオリゴ糖およびビフィズス菌を食品または飼料に添加することにより、腸管出血性大腸菌をはじめとするペロ毒素産生菌により産生されるペロ毒素を効果的にしかも安全に中和することを見出した。

【特許請求の範囲】

【請求項1】フラクトオリゴ糖を有効成分として含有することを特徴とするペロ毒素中和剤

【請求項2】フラクトオリゴ糖とビフィズス菌の両方を有効成分として含有することを特徴とするペロ毒素中和剤

【請求項3】ペロ毒素産生菌が腸管出血性大腸菌である請求項1または2記載のペロ毒素中和剤

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はペロ毒素など人体に病害をもたらす恐れのある毒素に対する毒素中和剤に関するものであり、毒素中和作用とは、ペロ毒素に起因した各種疾病（下痢、腹痛、血便、溶血性尿毒症症候群(HUS)、脳症など）の発症、進行、重症化ならびに死亡の抑制、症状の軽減などの作用を言う。詳しくはフラクトオリゴ糖もしくは、フラクトオリゴ糖とビフィズス菌の両方を含有することを特徴とするペロ毒素中和剤に関する。

【0002】

【従来の技術】1996年、病原性大腸菌による食中毒が日本全国において猛威を振るい、一年間で有症者が約一万人、死者が10名以上にのぼり、病原性大腸菌による溶血性尿毒症症候群(HUS)や脳症などの発症が社会問題となった。ペロ毒素産生菌の一種である腸管出血性大腸菌による食中毒にみられる下痢、血便、HUSおよび脳症は産生されるペロ毒素(VT)によるものであり、このペロ毒素は直接ヒトの体にはたらき、時にはヒトを死に至らしめるような重篤な症状を引き起こすということは定説になりつつある。ペロ毒素はVT1とVT2の2種類があるが、両者とも真核細胞のタンパク質合成を阻害する作用を有し、VT1は志賀赤痢菌の産生する志賀毒素と同一のものである。下痢をはじめとする種々の症状は毒素に対するレセプター(Cb3)をもつ細胞(血管内皮細胞、腎上皮細胞等)の機能障害の結果発症すると言われている。日本において大流行した腸管出血性大腸菌の80%以上がEscherichia coli O157:H7であるが、この他にも腸管出血性大腸菌にはEscherichia coli O157:H-, O111:H-, O26:H11, O128:H2, O1:H20, O18:H-, O114:H19, O115:H10をはじめ日本においては多種が見つかった。

【0003】そこで、このような腸管出血性大腸菌が産生するペロ毒素による疾病の予防、治療のために、Escherichia coli O157:H7をはじめとするペロ毒素産生菌の検出方法、疾病発症の作用機作の解明、あるいは有効な治療方法についての研究が進みつつあるが、まだ充分発症を抑制する方法は見出されておらず、有効な発症抑制方法の確立が望まれている。しかも、腸管出血性大腸菌の産生するペロ毒素による疾病の発症は、免疫機能の低い乳幼児や老人に多いため、これら乳幼児や老人でも摂

取しやすく、且つ安全な発症抑制剤を提供することが望まれていた。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明はペロ毒素産生菌に対する研究を鋭意進めた結果なされたものであって、腸管出血性大腸菌、志賀赤痢菌、Citrobacter freundii, Enterobacter cloacae, Aeromonas sppなどペロ毒素産生菌に起因した各種疾病（下痢、腹痛、血便、HUS、脳症など）の発症、進行、重症化ならびに死亡の抑制、症状を軽減させることなどを可能にするペロ毒素中和剤を提供することを課題とする。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記課題を解決するべく鋭意研究を重ねた結果、フラクトオリゴ糖、またはフラクトオリゴ糖およびビフィズス菌を食品または飼料に添加することにより、腸管出血性大腸菌をはじめとするペロ毒素産生菌により産生されるペロ毒素を効果的にしかも安全に中和することを見出し、この知見に基づき本発明を完成するに至った。以下、本発明について詳述する。

【0006】尚、本明細書中で使用する毒素の中和作用とは、ペロ毒素に起因した各種疾病（下痢、腹痛、血便、HUS、脳症など）の発症、進行、重症化ならびに死亡の抑制、症状の軽減などの作用をいい、科学的または医学的に毒素を中和することに限定されるものではない。また、ペロ毒素産生菌とは、腸管出血性大腸菌や志賀赤痢菌はもちろんのこと、VT1またはVT2に限らずペロ毒素を産生することの可能な菌全てを含むものである。

【0007】

【発明の実施の形態】本発明に用いられるフラクトオリゴ糖は自然界に広く分布するオリゴ糖であり、ショ糖のフラクトース残基に1〜3分子のフラクトースが結合した糖の混合物である。このフラクトオリゴ糖は腸内のビフィズス菌増殖促進作用、整腸作用、難消化性等の優れた生理効果を有することから、食品および飼料分野における新しい機能性食品素材として使用されている。

【0008】本発明者らは、フラクトオリゴ糖のさらに新しい生理効果をかねてより研究してきたが、驚くべきことにペロ毒素産生菌の一種である腸管出血性大腸菌に対してフラクトオリゴ糖を含有するペロ毒素中和剤を摂取することが、ペロ毒素に起因した各種疾病（下痢、腹痛、血便、溶血性尿毒症症候群(HUS)、脳症など）の発症、進行、重症化ならびに死亡の抑制、症状の軽減などの中和作用を有することを見いだしたのである。フラクトオリゴ糖の腸管出血性大腸菌をはじめとするペロ毒素産生菌が産生するペロ毒素に対する中和作用に関する報告は今までになく、本発明を最初とする。

【0009】本発明に関わるフラクトオリゴ糖は、以下の実施例に示した如くEscherichia coli O157:H7をはじめとするペロ毒素産生菌が産生するペロ毒素を中和し、

延命効果を発揮する。このことから、フラクトオリゴ糖を有効成分として含有する本発明のペロ毒素中和剤は、腸管出血性大腸菌をはじめとするペロ毒素産生菌が産生するペロ毒素の中和剤として極めて有効に利用できる。また、本発明の有効成分であるフラクトオリゴ糖は、主として1-kestose (GF2)、nistose (GF3)、1-fructosyl-nistose (GF4)の混合物であり、これらの構成成分はグルコースとフラクトースであり、天然食品中(タマネギ、バナナ、ゴボウ、ニンニク等)に含有され、広く自然界に分布し長期間に渡る食経験があるためその安全性は確認されている。さらに、製造方法が既に確立され大量に、且つ安定に供給可能である面からも実用性が高い。本発明で用いるフラクトオリゴ糖の構成成分の例としてはグルコース、フラクトースおよびショ糖が0~5%、GF2が29~41%、GF3が44~56%、GF4が6~14%(メイオリゴPR、明治製菓株式会社)等をあげることができる。さらに、これらの成分を単独でも用いることも考えられる。

【0010】本発明のペロ毒素中和剤は、フラクトオリゴ糖にビフィズス菌を含有させることも含む。用いるビフィズス菌の種類は特に限定されないが、通常の飲食品に対して使用する場合には、ヒト由来のビフィズス菌を使用するのが好ましく、また飼料に対して使用する場合には、対象とする動物由来のビフィズス菌を使用することが好ましい。これらのビフィズス菌の使用形態は特に限定されないが、凍結乾燥して調製した生菌粉末等を利用することが好ましい。

【0011】本発明のペロ毒素中和剤は、フラクトオリゴ糖を単独またはビフィズス菌の両方と含有させることができ、しかも本発明の目的にかなうものであればその形態は特に限定されない。すなわち、液状または粉末状のフラクトオリゴ糖をそのまま用いることができると同時に食品、薬品、飼料原料等と混合して使用することもできる。従って、多くの飲食品、薬剤および飼料の形態をとることができる。本ペロ毒素中和剤の摂取量は特に限定されないが、各飲食品、薬剤および飼料の特性、嗜好性、甘味度あるいは経済性等を考慮して、その添加量としては20%以下、好ましくは0.1~10%程度であればよく、目的に応じ、適当な製造工程の段階で、適宜配合すればよい。

【0012】またフラクトオリゴ糖は甘味を有するので、甘味料の代替あるいはその一部代替として適宜使用することもできる。すなわち家庭用調味料、テーブルシ

ュガーあるいはコーヒー、紅茶用の甘味料として常用することもできる。

【0013】

【実施例】以下、実施例をあげて具体的に、且つ詳細に説明するが、これらは本発明を限定するものではない。本発明の特徴は、腸管出血性大腸菌等ペロ毒素産生菌に感染することにより、溶血性尿毒症症候群や脳症などの重篤な疾病に罹患する可能性の高い乳幼児の腸内のモデルとして、ビフィズス菌単独定着マウスを実験動物として用いた。

【0014】実施例1

ペロ毒素産生 *Escherichia coli* O157:H7 感染マウスに、フラクトオリゴ糖(5%)を有効成分として含有する飼料をペロ毒素中和剤として摂取させ、ペロ毒素による疾病の発症を抑制する以下の結果を得た。

ビフィズス菌単独定着マウスに対する感染実験

体重約20gのBALB/c系無菌マウス16匹に、ヒト腸内由来のビフィズス菌 (*Bifidobacterium adolescentis* MBL 8321株)を一匹当たり 2.9×10^7 cfuずつ接種した。マウスを2群に分け、コントロール群(9匹、C群)には市販の固形滅菌飼料(MF)を、フラクトオリゴ糖摂取群(7匹、FO群)にはMFとフラクトオリゴ糖を(メイオリゴPR、明治製菓株式会社)95:5に混合した固形滅菌飼料を摂取させた。ビフィズス菌接種5週間後に病原性大腸菌として腸管出血性大腸菌である *Escherichia coli* O157:H7(7087株)を感染させ、マウスの死亡率を観察する感染実験を行った。尚、病原性大腸菌感染5日目に糞便中の *Escherichia coli* 菌数およびビフィズス菌数の測定を行った。糞便中菌数の測定は、新鮮糞便を採取し、嫌気性リン酸緩衝液により適当に希釈後、*Escherichia coli* 菌数についてはSMCプレートにより24時間好気培養を、またビフィズス菌数についてはBLプレートを用い48時間の嫌気培養を行い、検出されたコロニー数より求めた。

【0015】表1に示す通り、C群に比較して、FO群には大幅な延命効果が認められた。また、表2に示す通り、C群に対してFO群の感染後5日目の糞便中 *Escherichia coli* O157:H7菌数には大差がないにも関わらず、FO群はC群と比較して生存率が大幅に高くなり、フラクトオリゴ糖摂取がペロ毒素の毒性を著しく低減させたことが観察された。

【0016】

【表1】

表1 *Escherichia coli* O157:H7 (7087株) 感染後の
両群におけるマウス死亡数

(四)

経過日数	C群	F0群
9	2 2/9	
10		
11	1 3/9	1 1/7
12	3 6/9	1 2/7
13	1 7/9	
14	1 8/9	

C群 : コントロール群

F0群 : 5%フラクトオリゴ糖摂取群

上 段 : 死亡マウス数

下 段 : 累計死亡マウス数

【0017】

* *【表2】

表2 感染5H後のマウス糞便中 *Bifidobacterium adolescentis*
(MBL 8321株) および *Escherichia coli* O157:H7 (7087株) 菌数

菌種	C群	F0群
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> (MBL8321)	5.1×10^8	1.5×10^{10}
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (7087)	2.6×10^8	2.0×10^8

【0018】

【発明の効果】本発明に従えば、ペロ毒素中和剤としてフラクトオリゴ糖を摂取することは、腸管出血性大腸菌をはじめとするペロ毒素産生菌により引き起こされるペロ毒素に起因する疾病の発症を中和することとなる。従って、高いペロ毒素中和作用を有する飲食品または飼料

40 を安全に且つ簡便に提供することができる。以上のことから本発明はこれを摂取することにより例えば、腸管出血性大腸菌の産生するペロ毒素によって引き起こされる各種疾病（下痢、腹痛、血便、HUSおよび脳症など）の発症、進行の抑制等に優れた手段を提供することができ、その意義は極めて大きい。